

用基因芯片检测 *DPYD* 等位基因 在受试人群中的发生频率*

文思远 王晓云** 张敏丽 王升启***

(军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850)

摘要 二氢嘧啶脱氢酶基因 (*DPYD* 基因) 所编码的二氢嘧啶脱氢酶 (DPD 酶) 是氟化嘧啶类抗肿瘤药物代谢的主要限速酶, 其活性存在显著的个体差异, 并因此影响药物的疗效和毒副作用。大部分编码低/无活性酶的突变型等位基因是由于基因中的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 造成的, 检测这些 SNPs 是预测患者对药物的反应和实现个体化给药方案的基础。制备并优化了用于检测 *DPYD* 基因中 6 个已知 SNPs 所编码的等位基因 (*DPYD**2, *3, *4, *5, *9, *12) 的基因芯片, 建立了该芯片的基因分型标准。并利用该芯片检测了肿瘤患者 (112 例)、肾病患者 (83 例) 和健康者 (45 例) 中 *DPYD* 突变型等位基因的发生频率。在受试人群中, 突变型等位基因 *DPYD**5 和 *DPYD**9 平均发生率分别为 32.08% 和 11.25%, 未发现 *DPYD**2, *3, *4, *12 突变型等位基因。而且以上单碱基突变的发生率在肿瘤患者、肾病患者和健康者间以及男性、女性肿瘤患者间无显著性差异, 表明其与疾病的发生或性别无显著性关联。对 20 例标本的基因分型结果采用直接测序法进行验证, 19 例基因芯片分型结果与直接测序法结果相一致。*DPYD**5、*DPYD**9 突变型等位基因在受试人群中具有较高的发生率。利用基因芯片能够对其实现快速准确的检测。

关键词 二氢嘧啶脱氢酶基因 (*DPYD* 基因), 寡核苷酸芯片, 基因分型, 药物基因组学

学科分类号 Q812

自从对肿瘤实行化疗以后, 5-氟尿嘧啶一直是临床应用最广泛的抗癌药物之一, 对包括胃癌、乳腺癌、肠癌、皮肤癌等多种肿瘤治疗有效。近年来发展的新型口服氟化嘧啶类药物^[1,2]进一步加强了此类药物的临床应用。

在人体内, 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 给药剂量的 85% 以上经 DPD 酶 (二氢嘧啶脱氢酶, 嘧啶代谢途径中的首要限速酶) 降解为无活性代谢物 (二氢氟尿嘧啶, FUH₂)^[3,4]。因而 DPD 酶在 5-氟尿嘧啶代谢的整体调节中具有重大意义, 直接影响其在肿瘤患者体内的药代动力学性质、毒性及疗效。在临床观察中发现 DPD 酶活性存在显著的个体差异。当给予常规剂量的 5-氟尿嘧啶, DPD 酶活性缺乏的癌症患者出现了严重的甚至致命的毒性反应^[5,6]。研究基本揭示了 DPD 酶活性降低在基因水平的分子基础。DPD 酶是由 *DPYD* 基因 (二氢嘧啶脱氢酶基因) 编码的, 该基因某些位点的遗传多态性造成了 DPD 酶活性的变化。*DPYD* 基因 (>950 kb) 含有 23 个外显子, 编码序列长度约为 3 kb。到目前已发现多种突变的 *DPYD* 等位基因, 其分子缺陷分别为单核苷酸替换、核苷酸缺失或剪切位点突变所致的外显子缺失。研究资料表明, DPD 酶活性降低或丧失的发生率达到 3%^[7~10]。

随着 *DPYD* 基因分子基础的阐明和相关突变检测 (基因分型) 技术的发展, 通过检测 *DPYD* 基因多态性来预测肿瘤患者对 5-FU 的毒性风险, 逐渐成为一种可行的临床检测手段。本研究针对文献报道的出现频率较高或引起 DPD 酶活性变化的 6 种突变型等位基因 (*DPYD**2, *3, *4, *5, *9, *12) 制备了寡核苷酸基因分型芯片, 并用其在肿瘤患者、肾病患者和健康志愿者中进行了 *DPYD* 基因多态性的检测。结果表明 *DPYD**5 和 *DPYD**9 在中国人群中具有较高发生率, 其与 5-FU 的疗效和毒副作用的关系有待深入研究。

1 材料与方法

1.1 DNA 样品

从北京 307 医院、301 医院共收集 112 例肿瘤患者、83 例肾病患者和 45 例健康者的抗凝外周血样品。用基因组 DNA 纯化试剂盒 (Genomic DNA purification kit, Promega 公司) 按说明从全血中提

* 国家高技术“863”计划资助项目 (2002AA2Z3411)。

** 共同第一作者, 北京大学第一附属医院, 北京, 100009

*** 通讯联系人。

Tel: 010-66932211, E-mail: sqwang@nic.bmi.ac.cn

收稿日期: 2004-06-21, 接受日期: 2004-07-30

取基因组 DNA, 紫外 (DU® 640, Beckman Coulter) 定量后冻存于 -20℃ 备用.

1.2 寡核苷酸合成

引物或探针设计时, 以 *DPYD* 基因 mRNA 序列 (gi: 4557874) 与人类基因组 DNA 序列 (gi | 18545291: c1429384-1281442) 比对, 得到 *DPYD* 基因 DNA 序列. 寡核苷酸采用标准亚磷酰胺化学方法在 DNA 自动合成仪 (ABi 8909) 上合成. 所

有下游引物在合成中用 Cy3 亚磷酰试剂 (Cruachem 公司) 在 5'端进行荧光标记. 所有分型探针在 3'端进行氨基修饰, 氨基与探针序列之间以间隔臂 (聚乙二醇磷酰化试剂) 相连. 合成完毕用浓氨水 55℃ 作用 15 h 脱保护和切割, 寡核苷酸纯化柱 (OPC) 反相柱纯化. 本实验所用的引物、探针等寡核苷酸序列见表 1.

Table 1 Oligonucleotides used in this study

	Sequence (5'—3')	Application
F1	CCA CTG CAC TCC AGC CTG GGT GAC	Forward (F1, F2, F3) and reverse (R1, R2, R3) primers used to amplify the target fragments of <i>DPYD</i> gene containing SNP sites. Reverse primers were fluoresceintly labeled at 5' end.
R1	CCA CTG CAC TCC AGC CTG GGT GAC	
F2	CAC TCC TAT TGA TCT GGT GGA C	
R2	ATC CAG CTT CAA AAG CTC TTC	
F3	AGC TCA TCA GTG AGA AAA CGG C	
R3	AGC AAA GCA ACT GGC AGA TTC	
Intron14G1A	CCC AGA CAA CGT AAG TGT GA CCC AGA CAA CAT AAG TGT GA	Genotyping probes for <i>DPYD</i> * 2
deleteC1897	GCT GAC TTC CCA GAC AAC G GCT GAC TTC CAG ACA ACG	Genotyping probes for <i>DPYD</i> * 3
G1601A	GTG GAC ATT AGT GTA GAA ATG GTG GAC ATT AAT GTA GAA ATG	Genotyping probes for <i>DPYD</i> * 4
A1627G	GAT TGA AGT TTA TAA ATC CTT T GAT TGA AGT TTG TAA ATC CTT T	Genotyping probes for <i>DPYD</i> * 5
T85C	CAA CTC TGT GTT CCA CTT CAA CTC TGT GTC CCA CTT	Genotyping probes for <i>DPYD</i> * 9
G62A	AAA TCC TCG AAC ACA AAC AAA TCC TCA AAC ACA AAC	Genotyping probes for <i>DPYD</i> * 12

1.3 PCR 扩增

对目标基因片段采用三重不对称 PCR 的方法扩增. PCR 反应条件: 20 μl 反应体系中含有 1 × PCR 缓冲液, 200 μmol/L dNTP, 上游引物 (F1、F2、F3) 各 0.1 μmol/L, 下游引物 (R1、R2、R3) 各 2 μmol/L, 基因组 DNA 100 ng 或质粒 DNA 40 ng, Taq 酶 1 U. PCR 扩增仪 (PTC-100™程序化温度控制仪, MJ. Research Inc) 条件设置为: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 40 个循环; 最后在 72℃ 延伸 5 min. PCR 产物用 2.5% 的琼脂糖凝胶电泳分析.

1.4 野生型与突变型重组质粒的构建

以野生型基因组 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 纯化产物用 T4 DNA 连接酶连接至 T 载体

(PGEM®, Promega 公司), 转化感受态大肠杆菌 JM109 并经测序确证. 以野生型重组质粒为模板, 采用突变引物 PCR 扩增产生定点突变的方法, 在目标片段的特定位点引入突变碱基, 纯化目标片段, 用 T4 DNA 连接酶连接至 T 载体, 转化感受态大肠杆菌 JM109 并经测序确证.

1.5 醛基化玻片的制备

标准载玻片用重铬酸洗液浸泡过夜, 蒸馏水清洗, 依次用 25% 氨水溶液和 1 μmol/L 的盐酸水溶液浸泡 8 h, 蒸馏水清洗. 将洁净的载玻片浸入氨丙基三甲氧基硅烷 (Sigma 公司) 95% 的乙醇溶液中, 冰醋酸调节 pH 至 4.5, 室温处理 30 min. 95% 乙醇超声清洗, 蒸馏水超声清洗, 115℃ 烘干. 将氨基化载玻片浸入 5% 的戊二醛 (Sigma 公司)

水溶液, 室温处理 30 min. Milli-Q 超纯水 (18.2 mΩ) 清洗, 室温干燥备用.

1.6 寡核苷酸芯片的制备

将探针稀释于点样液 (3 × SSC, 0.01% SDS) 至终浓度 40 μmol/L, 各取 10 μl 置于 96 孔板. 用微阵列点样仪 (Cartisan) 按表 2 矩阵点至醛基化玻片上, 每点体积约为 0.5 nl, 直径约为 200 μm, 重复点 2 次. 点样时保持湿度 70%, 温度 23℃. 点样后的芯片在使用前室温放置至少 24 h.

Table 2 Array format of DPYD genotyping probes

*9W	*9M	*12W	*12M
*9W	*9M	*12W	*12M
*4W	*4M	*5W	*5M
*4W	*4M	*5W	*5M
*3W	*3M	*2W	*2M
*3W	*3M	*2W	*2M

W: wild type, M: mutant.

1.7 杂交和信号检测

Cy3 标记的单链 PCR 产物与杂交液 (5 × SSC, 0.1% SDS, 1 × Denhardt 试剂) 混合, 将 10 μl 的混合液转移至芯片的杂交区域. 芯片置于杂交盒中, 在 40℃ 水浴中保温 1 h. 杂交后的芯片依次在洗液 A (1 × SSC, 0.2% SDS), 洗液 B (0.2 × SSC) 和洗液 C (0.1 × SSC) 中各洗涤 1 min.

芯片用共聚焦扫描仪 GenePix 4000B (Axon 公司) 在激发波长 540 nm, 发射波长 570 nm (Cy3) 扫描. 由软件 GenePix Pro4.0 产生并分析精度为 10 μm 的 16 位 TIFF 图象. 在扣除背景值后, 信号强度以每条探针的重复两点均值计算.

1.8 DNA 测序

DNA 测序采用自动测序仪 (CEQ™ 2000XL DNA analysis system, Beckman 公司) 并按照操作说明进行. 测序模板为纯化的质粒或纯化的 PCR 产物 (1.8 < A₂₆₀/A₂₈₀ < 2.1).

2 结 果

2.1 PCR 反应条件优化

为简化实验操作, 本研究统一设计、调整、优化了所有 PCR 引物序列和反应条件, 使得所有目标基因片段在相同的 PCR 反应条件下具有稳定、高效的扩增. 另外, 实验结果表明^[11], 采用普通的对称 PCR 扩增产物与芯片杂交前需要将 PCR 产

物变性以得到适于杂交的单链产物, 但由于杂交条件下互补双链自身退火, 使基因芯片上检测探针的杂交信号弱; 而采用不对称 PCR 扩增产生的大量单链产物, 可以促进芯片表面的杂交反应, 得到的检测信号强且结果稳定、重复性好, 但不对称 PCR 反应在一定程度上降低了扩增的效率. 本研究比较了不对称 PCR 反应的上、下游引物比例为 1:10, 1:20, 1:40 时 PCR 扩增效率、杂交信号强度以及反应稳定性等的综合结果, 将上、下游引物比例优化为 1:20 (图 1).

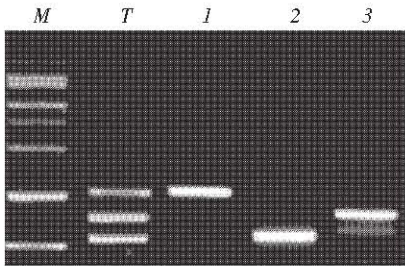


Fig. 1 2.5% agarose gel electrophoresis of the PCR products of DPYD gene

M: DGL2000 marker; T: Triplex PCR products of F1/R1, F2/R2, F3/R3. I: F1/R1; 2: F2/R2; 3: F3/R3.

2.2 基因芯片分型探针与杂交条件的优化

在单核苷酸多态性检测中, 检测探针的设计与优化, 是基于芯片杂交的基因分型方法的关键. 本研究中探针设计原则是: 探针长度为 (19 ± 2) 个核苷酸, T_m 值为 (60 ± 2)℃, 序列中间的核苷碱基分别与正常的或突变的等位基因互补. 但由于计算软件的预测与实际的杂交反应存在偏差, 需要根据杂交反应结果对探针进行经验性的调整优化. 优化后的寡核苷酸序列见表 1. 在以 SSC 为主的杂交液系统中, 杂交温度与杂交时间等参数优化如 1.7 中所示.

2.3 标准模板的构建与分型标准的确定

为优化芯片杂交条件以及建立芯片分型标准, 按照方法 1.4 构建野生型与突变型重组质粒作为标准模板. 其中突变型基因片段是由突变引物引入定点突变. 将纯化的质粒作为标准的野生型或突变型模板, 等量的野生型和突变型质粒混合物作为标准的杂合型模板, 来优化芯片杂交条件以及建立完全匹配与单碱基错配的探针间信号强度的比值.

在优化的杂交条件与严谨的洗脱条件下, 按照标准野生型与突变型质粒模板的杂交结果, 完全匹

配的探针与单碱基错配的探针杂交信号强度之间存在明显的差异。匹配与错配探针信号强度比值在4倍以上。对基因芯片技术来说,杂合型等位基因的检测是一个难点。在本研究中,人工构建杂合型模板的杂交结果显示,对应于杂合型等位基因的探针

对,其信号强度比值小于2.5(信号比值为强信号/弱信号)。用基因组DNA所做的重复实验得到相同结果。因而认为信号比值大于4或小于2.5对分型结果的判断有意义,而当信号值在2.5~4范围内应重测。图2显示基因芯片检测DNA标本的代表性扫描结果。

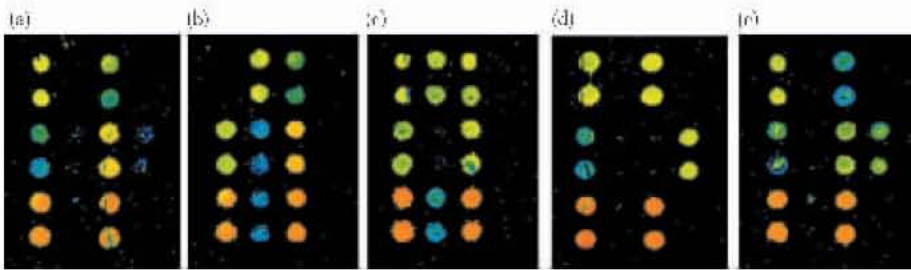


Fig. 2 Scanning image of the representative DNA samples detected by DNA microarray
(a) Wild type homozygote; (b) *DPYD**9 homozygote; (c) *DPYD**1/*9 heterozygote; (d) *DPYD**5 homozygote;
(e) *DPYD**1/*5 heterozygote.

2.4 临床标本的基因芯片分型

用基因芯片对受试人群中6个SNP位点进行检测,结果发现*DPYD**5平均突变率为32.08%,*DPYD**9平均突变率为11.25%。未发现*DPYD**2,*3,*4,*12突变型等位基因。*DPYD*等位基因在不同受试人群中分布如表3所示。经卡方检验,以上单碱基突变的发生率在肿瘤患者、肾病患者和健康

者中无显著性差异($P>0.05$),表明其与疾病的发生无显著性关联。

对突变型等位基因*DPYD**5和*DPYD**9在男性、女性肿瘤患者间发生频率进行比较(表4),经卡方检验,无显著性差异($P>0.05$),表明以上单碱基突变与性别无显著性关联。

Table 3 Allelic frequency of *DPYD5, *DPYD**9 in different subject groups**

Allele	Subject group	Mutant (homo-/heterozygous)	Wild type (homozygous)	Frequency/%
<i>DPYD</i> *5	Cancer patient	40	72	35.71
	Nephritic patient	14	31	31.11
	Healthy volunteer	23	60	27.71
<i>DPYD</i> *9	Cancer patient	15	97	13.39
	Nephritic patient	3	42	6.67
	Healthy volunteer	9	74	10.84

Table 4 Allelic frequency of *DPYD5, *DPYD**9 in male or female cancer patients**

Allele	Sex	Mutant (homo-/heterozygote)	Wild type (homozygote)	Frequency/%
<i>DPYD</i> *5	Male	25	45	35.71
	Female	15	27	35.71
<i>DPYD</i> *9	Male	11	59	15.71
	Female	4	38	9.52

2.5 基因芯片分型结果的验证

为验证基因芯片的分型结果, 将 20 份标本的 PCR 产物纯化后进行直接测序验证. 图 3 显示了对 3 份代表性 DNA 标本 (3 份标本经基因芯片检测分别为 *DPYD* 基因 T1627C 多态性位点的野生型、杂合突变型和纯合突变型) PCR 纯化产物的直接测序结果. 19 份标本的直接测序结果与基因芯片分型结果符合. 一例标本的基因芯片分型结果为 *DPYD**1/*5 杂合型, 而直接测序结果为野生型. 结果表明, 用基因芯片对杂合型的检测仍存在误判的风险. 但由于直接测序方法对模板纯度要求高, 操作复杂, 耗时长且成本高, 因此并不适用于对大样本人群进行基因多态性筛查. 尤其在已知基因序列或基因多态性信息的情况下, 利用基因芯片对大量样本进行基因分型可以得到快速准确、令人满意的结果.

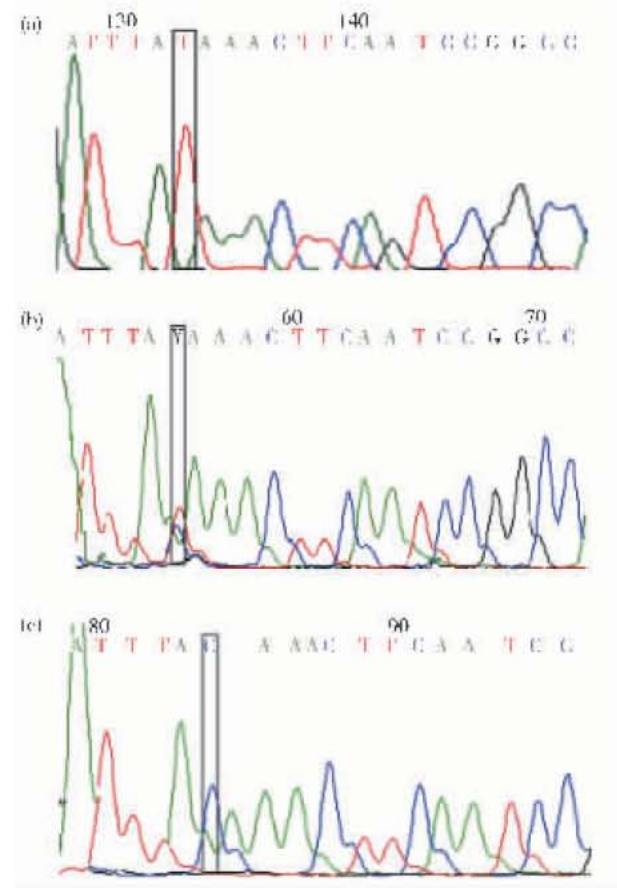


Fig. 3 Direct sequencing results of the purified PCR products of 3 DNA samples

Marked square indicated the T1627C SNP site in *DPYD* gene. (a) Wild type (single peak for T). (b) Heterozygous mutant (double peaks for T/C). (c) Homozygous mutant (single peak for c).

3 讨 论

目前国外资料所报道的有关药物效应相关基因多态性多为西方人群资料, 中国人群中相关数据甚少. 由于基因多态性具有显著的种族/地域性差异^[12], 因此开展针对中国人群的药物基因组学研究具有重要的价值和意义. 药物基因组学研究的深入发展, 最终将阐明药物处置和药物反应的遗传基础, 从根本上改变药物治疗模式, 实现个体化医疗.

在目前药物基因组学的初期研究中, 建立高通量、快速准确的基因分型技术是筛查大量受试人群、进行群体样本统计和基因功能分析的关键. 由于基因芯片技术是近年发展起来的一种程序化、规模化的基因结构分析与表达研究的新技术, 可同时进行多基因、多位点的多态性分型检测, 具有信息量大、灵敏度高、平行快速检测等特点, 因此被广泛应用于基因分型^[11,13~15].

5-FU 为嘧啶类氟化物, 属于抗代谢类抗肿瘤药物, 对增殖细胞各相均有杀伤作用. 虽然 5-FU 应用广泛、疗效显著, 但有时会出现严重的毒副作用甚至死亡. 由于 *DPYD* 基因所编码的 DPD 酶是 5-FU 代谢中的主要限速酶, 因此, *DPYD* 基因多态性的检测及其功能研究对于接受 5-FU 的肿瘤患者指导用药以及预防严重的毒副作用或不良反应具有重要的意义. Hsiao 等^[8]采用 PCR-RFLP 和 DPD ELISA 的方法研究了 300 例中国台湾人的 *DPYD* 基因多态性与 DPD 酶量的关系. 其结果认为 *DPYD* 基因多态性与 DPD 酶量无关. 但 DPD 酶量并不等同于酶活性, 因此其研究未说明 *DPYD* 基因多态性与 DPD 酶活性的关系. 本研究针对 *DPYD* 基因中出现频率较高或可能引起酶活性变化的单核苷酸多态性 (SNP) 位点, 设计并制备了相应的寡核苷酸基因分型芯片. 并在肿瘤患者、肾病患者和健康志愿者中进行了 *DPYD* 等位基因筛查. 实验发现, 在中国受试人群中, 突变型等位基因 *DPYD**5 和 *DPYD**9 具有高发生率. 而且以上单碱基突变的发生率在肿瘤患者、肾病患者和健康者间以及男性、女性肿瘤患者间无显著性差异, 表明其与疾病的发生或性别无显著性关联. 其中, *DPYD**5 (外显子 13 A1627G) 位点的平均突变率为 30.28%, 与文献报道的 28% 突变率接近. 但文献报道该位点的碱基突变并不引起体内 DPD 酶活性的变化. *DPYD**9 (外显子 2 T85C) 的突变率未见文献系统

报道,在本研究受试人群中检测到 *DPYD**9 的平均突变率约为 11.25%。研究认为该位点的碱基多态性与 5-FU 的药代动力学性质密切相关,突变的人体内 DPD 酶活性完全缺失,无法代谢 5-FU,故当使用 5-FU 时毒副作用会较大,甚至危及生命。因此, *DPYD**9 突变型肿瘤患者在接受化疗时,应避免或减量使用 5-FU,并严密监视药物的毒副作用。对于 *DPYD**9 杂合突变型或纯合突变型个体对 5-FU 代谢的基因量效关系尚在进一步研究之中。

参 考 文 献

- 1 Takeda Y, Yoshizaki I, Nonaka Y, *et al.* Docetaxel alone or orally combined with 5-fluorouracil and its derivatives: effects on mouse mammary tumor cell line MM2 *in vitro* and *in vivo*. *Anticancer Drugs*, 2001, **12** (8): 691~698
- 2 Kono T, Ishii M, Negoro N, *et al.* Scleroderma-like reaction induced by uracil-tegafur (UFT), a second-generation anticancer agent. *J Am Acad Dermatol*, 2000, **42** (3): 519~520
- 3 Mattison L K, Soong R, Diasio R B. Implications of dihydropyrimidine dehydrogenase on 5-fluorouracil pharmacogenetics and pharmacogenomics. *Pharmacogenomics*, 2002, **3** (4): 485~492
- 4 Gardiner S J, Begg E J, Robinson B A. The effect of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency on outcomes with fluorouracil. *Adverse Drug React Toxicol Rev*, 2002, **21** (1~2): 1~16
- 5 van Kuilenburg AB. Dihydropyrimidine dehydrogenase and the efficacy and toxicity of 5-fluorouracil. *Eur J Cancer*, 2004, **40** (7): 939~950
- 6 Wei X, McLeod H L, McMurrough J, *et al.* Molecular basis of the

human dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency and 5-fluorouracil toxicity. *J Clin Invest*, 1996, **98** (3): 610~615

- 7 Omura K. Clinical implications of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) activity in 5-FU-based chemotherapy: mutations in the DPD gene, and DPD inhibitory fluoropyrimidines. *Int J Clin Oncol*, 2003, **8** (3): 132~138
- 8 Hsiao H H, Yang M Y, Chang J G, *et al.* Dihydropyrimidine dehydrogenase pharmacogenetics in the Taiwanese population. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2004, **53** (5): 445~451
- 9 Gross E, Ullrich T, Seck K, *et al.* Detailed analysis of five mutations in dihydropyrimidine dehydrogenase detected in cancer patients with 5-fluorouracil-related side effects. *Hum Mutat*, 2003, **22** (6): 498~502
- 10 van Kuilenburg A B, de Abreu R A, van Gennip A H. Pharmacogenetic and clinical aspects of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. *Ann Clin Biochem*, 2003, **40** (Pt 1): 41~45
- 11 Wen S Y, Wang H, Sun O J, *et al.* Rapid detection of the known SNPs of CYP2C9 using oligonucleotides microarray. *World Journal of Gastroenterology*, 2003, **9** (6): 1342~1346
- 12 Bertilsson L. Geographical/interracial difference in polymorphic drug oxidation. *Clin Pharmacokinet*, 1995, **29** (3): 192~209
- 13 Pastinen T, Raitio M, Lindroos K, *et al.* A system for specific, high-throughput genotyping by allele-specific primer extension on microarrays. *Genome Res*, 2000, **10** (7): 1031~1042
- 14 Gerry N P, Witowski N E, Day J, *et al.* Universal DNA microarray method for multiplex detection of low abundance point mutations. *J Mol Biol*, 1999, **292** (2): 251~262
- 15 Iwasaki H, Ezura Y, Ishida R, *et al.* Accuracy of genotyping for single nucleotide polymorphisms by a microarray-based single nucleotide polymorphism typing method involving hybridization of short allele-specific oligonucleotides. *DNA Res*, 2002, **9** (2): 59~62

Frequency Detection of The Known *DPYD* Alleles in The Studied Subjects Using Oligonucleotide Microarray*

WEN Si-Yuan, WANG Xiao-Yun**, ZHANG Min-Li, WANG Sheng-Qi***

(Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China)

Abstract DPD enzyme, encoded by the *DPYD* gene, is the major rate-limiting enzyme in the metabolism of the anti-cancer drugs. And it exists substantial inter-individual variations in its enzymatic activity. It was shown that mutant alleles of *DPYD* that encoding an inactive/decreased enzyme are largely caused by SNP (single nucleotide polymorphism) in the gene. Detection of the SNPs is the basis for the prediction of drug-response and realization of individualized therapeutic regimen for patients. For this reason an oligonucleotide microarray for genotyping 6 known SNPs of *DPYD* gene was optimized, and the genotyping standard for this microarray was fabricated. The microarray system was used to detect the mutant allelic frequency of *DPYD* in cancer patients (112 individuals), nephrotic patients (83 individuals) and healthy subjects (45 individuals). In the studied groups, the average frequencies for the mutant alleles of *DPYD**5 and *DPYD**9 are 11.25% and 32.08% respectively. No mutant alleles of *DPYD**2, *3, *4, *12 were found. And there is no significant difference ($P > 0.05$) in the mutation incidence in different subject groups or sex groups. The SNPs was shown to have no significant association with the disease and sex. The genotyping results of 20 samples were tested by direct sequencing, the genotyping results of

19 samples by microarray were conformed with the direct sequencing. The allelic frequencies of *DPYD**5 and *DPYD**9 is high in the studied groups, quick and accurate detection of them can be achieved by using DNA microarray.

Key words *DPYD* gene, oligonucleotide microarray, genotyping, pharmacogenomics

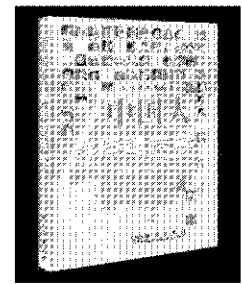
* This work was supported by a grant from The State 863 High Technology R&D Project of China (2002AA2Z3411).

** Co-first author, Peking University First Hospital, Beijing 100009

*** Corresponding author. Tel: 86-10-66932211, E-mail: sqwang@nic.bmi.ac.cn

Received: June 21, 2004 Accepted: July 30, 2004

科学出版社生命科学编辑部新书推介



中国人群体遗传学

杜若甫 主编

2004 年 10 月出版

7-03-013320-X/Q. 1413

16 开 精装

定价: 120.00 元

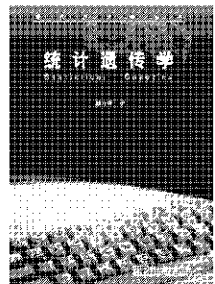
统计遗传学

顾万春 编著

2004 年 8 月出版

7-03-012476-6/Q. 1335

定价: 58.00 元



• 内容提要 •

本书是《现代遗传学丛书》之一,是首部有关中国各民族、多项遗传性状与标记的群体遗传学专著,由我国著名的人类群体遗传学家杜若甫博士主编,人类群体遗传学各领域中长期从事这方面研究的专家分别撰写各章。

本书第一章对我国 56 个民族一一作了简要说明,第二章至第十一章的内容分别为 ABO 血型系统, MNSs、Rh、Kidd、Duffy、Kell、Diego、P、Xg、Lutheran 等血型系统, HLA 系统, 血红蛋白, 血清蛋白, 酶, 苯硫脲味盲、色盲与耳垢, DNA 多态性, 人体测量学指标与人体特征, 皮纹。每一章都汇集了国内外对中国人该遗传性状与标记的研究结果, 并进行了初步讨论与分析。第十二章对我国各民族的近亲结婚与族间通婚的研究成果进行了综合与分析。第十三章则对在人群各遗传性状与标记研究成果的基础上所进行的遗传距离、遗传拓扑学及主成分分析的研究, 进行了讨论与分析。

本书可供遗传学、人类学、民族学等专业的教师、研究生、大学生, 以及有关科研人员参考。

• 内容提要 •

本书是《现代遗传学丛书》之一。它运用遗传学与数学的理论和方法, 归纳整合群体遗传学、数量遗传学、生态遗传学和分子遗传学等分支学科内容, 系统深入地论述自然选择与人工选择、基因频率与概率、群体遗传结构与分化、繁殖机制与瓶颈效应、遗传漂变与样本策略、梯度变异与生态遗传、遗传参数与数学模型、选择指数与选择效率、分子标记与 MAS 以及遗传多样性测定评价等遗传学量化命题, 阐明遗传变异规律及方法论, 指导遗传与育种研究实践。全书系统清晰, 内容翔实, 图文、表配置有序。

本书可供综合性大学和农学、医学、植物学类大专院校的遗传学、育种学、种质资源学、生态学、生物工程学等方面的教师、研究生、大学生以及有关科研人员参考。

欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书(免邮费)。邮购地址: 100717 北京东黄城根北街 16 号科学出版社 科学分社

联系人: 阮芯 联系电话: 010-64034622 (带传真)

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>, 欢迎致电索要书目, 010-64012501